

Über die Bevorzugung mineralstoffhaltiger
Lösungen gegenüber reinem Wasser
durch die Honigbiene

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Annemarie Piscitelli

aus

Borgo/Valsugana

(Italien)

Juni 1958

5349/60

Berichterstatter:

1. Frau Prof. Dr. R. BEUTLER†

2. Herr Prof. Dr. Dr. K. VON FRISCH

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1958

Sonderdruck aus

Z. vergl. Physiologie, Bd. 42, S. 501—524 (1959)

Springer-Verlag OHG. Berlin · Göttingen · Heidelberg

Aus dem Zoologischen Institut der Universität München

ÜBER DIE BEVORZUGUNG MINERALSTOFFHALTIGER LÖSUNGEN GEGENÜBER REINEM WASSER DURCH DIE HONIGBIENE*

Von

ANNEMARIE PISCITELLI

Mit 19 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. August 1959)

I. Einleitung und Fragestellung

Freilandbeobachtungen und Beobachtungen von Imkern haben gezeigt, daß Bienen stark verschmutzte Wasserstellen (z. B. Pfützen, Dachrinnen, in denen faulendes Laub lag) reinen Tränken vorziehen. So trat die Frage auf, nach dem Grund dieser Auswahl: Werden die Bienen durch Geruch des verunreinigten Wassers angelockt oder sind im Wasser gelöste Stoffe, Mineralstoffe, die Ursache dafür, daß Bienen verschmutztes Wasser gegenüber reinem bevorzugen?

Experimentelle Untersuchungen über diesen Punkt gibt es kaum. Nur BUTLER hat 1940 Bienen verschiedene Mineralsalzlösungen zur Auswahl angeboten. Nach einigen Versuchstagen kam er zu dem Schluß, daß wohl die geruchliche Komponente gekoppelt mit dem Wassersinn (HERTZ 1937) der anlockende Faktor sei. Auch LINDAUER (1954) neigte zu dieser Ansicht. Über den Mineralstoffgehalt des Bienenkörpers sind wir durch einige Aschenanalysen orientiert (M. F. ARONSOHN 1911, LEDERLE 1920). Obwohl die Werte untereinander stark differieren, überwiegt in der Regel der Kalium- den Natriumgehalt.

Die Versorgung mit Kalium kann aus dem K-reichen Pollen leicht erfolgen. Dieser gilt auch sonst als Quelle der Mineralstoffe für die Bienen, so daß es zweifelhaft erschien, ob sie diese im Wasser zusätzlich suchen.

Es sollte in vorliegender Arbeit deshalb geprüft werden, ob die Bienen reine Mineralsalzlösungen gegenüber reinem Wasser bevorzugen und wozu die mit dem Wasser aufgenommenen Mineralstoffe verwendet werden¹.

II. Methodik

Zuerst sollte entschieden werden, welche Mineralstofflösungen die Bienen annehmen. Ich fütterte zunächst in Kästchen gehaltene erwachsene Bienen mit verschiedenen Lösungen. Nach v. FRISCH waren die Kästchen in einem größeren Thermostaten bei konstanter Temperatur von 28° C und einer Luftfeuchtigkeit von 85—90% untergebracht. Die Luftfeuchtigkeit wurde täglich mit einem Aspirationspsychrometer nach ASSMANN gemessen und möglichst konstant gehalten.

* Dissertation der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

¹ Frau Prof. R. BEUTLER danke ich für die Anregung und Förderung der Arbeit.



Da die Drahtgitter der Kästchen in der feuchten Atmosphäre rosteten, wurden an einer Seitenwand 2 Luftschlitze eingesägt und das Kästchen mit einer Glasplatte verschlossen. Als Futterröhrchen wurden graduierte 1 ml Pipetten verwendet, die durch 3 in der Seitenwand angebrachte und mit durchbohrten Stopfen verschlossene Löcher in das Kästchen eingeführt wurden. Die Pipetten lagen so, daß die Lösungen nur nachliefen, wenn die Bienen saugten aber nichts heraus-tropfen konnte. Ich setzte in jedes Kästchen eine Schar von 10 Bienen und fütterte sie zunächst mit 2 mol. Saccharoselösung. Schon nach kurzer Zeit hatten die Bienen gelernt, aus den Pipetten zu saugen. Es wurde 2 mol. Saccharose (nach Analyse frei von anorganischen Verunreinigungen) in Aqua bidest. gelöst, daneben Aqua bidest. und eine Mineralstofflösung der Zusammensetzung 6,5 g NaCl; 1,4 g KCl; 0,12 g CaCl_2 ; 0,2 g NaHCO_3 ; 0,01 g NaH_2PO_4 ad 1000 cm^3 Aqua bidest. angeboten.

III. Fütterung erwachsener Bienen mit Ringerlösung im Thermostaten

Vom 26. 10. bis 9. 11. 53 wurden die Bienen nur mit Saccharoselösung und Aqua bidest. gefüttert, ab 9. 11. wurde außerdem die Ringer-

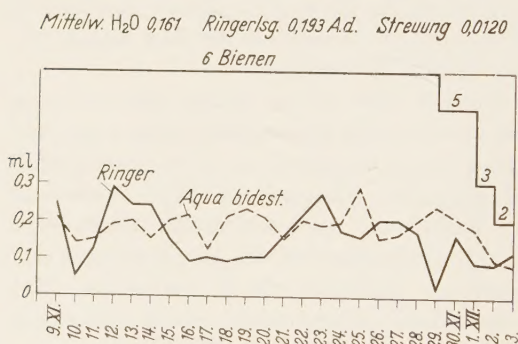


Abb. 1. Die Kurven zeigen die Aufnahme von Ringerlösung und Aqua bidest. durch erwachsene Bienen in einem Kästchen

lösung angeboten. Es zeigte sich, daß die Minerallösung gegenüber Wasser nur eine geringe, statistisch nicht gesicherte Bevorzugung hatte (Abb. 1).

Auswahlversuche mit verschiedenen Mineralsalzlösungen. Vom 21. 1. bis 1. 3. 54 erhielten die Bienen in 2 Versuchsreihen neben der selbst eingewogenen Ringerlösung noch Fixanal, Ter-

rakoron und als natürliches Mineralwasser Kondrauer Madonnenbrunnen angeboten. Fixanal ist eine Ringerlösung, die von Riedel de Haen hergestellt wird. Zusammensetzung: 8,0 g NaCl; 50 g CaCl_2 ; 0,4 g KCl; 1,0 g NaHCO_3 ad 1000 cm^3 Aqua dest. Terrakoron, ein Präparat aus der Kronenapotheke München hat folgende Zusammensetzung: 2,4 g Ca; 0,24 g Mg; 0,12 g Fe und Spurenelemente. (Die angegebenen Mengen sind in 100 g Terrakoron enthalten.)

Kondrauer Madonnenbrunnen enthält folgende Mineralstoffe: K 14,58 Na 254,54; Ca 200,89; Mg 97,98; Cl 133,39; SO_4 152,53; HCO_3 1365,4; NO_3 2,45; H_2SiO_3 41,0; CO_2 3029,7 mg/kg Wasser und in geringen Mengen Li, Ba, Al, Zn, Ni, Si, Mo, Fe, Mn, F, J, Br, HPO_4 , O_2 , HBO_2 . (Analyse aus dem Balneologischen Institut der Universität München.)

Um die Verdunstung zu kontrollieren wurde ein Kästchen ohne Bienen aufgestellt und die Pipette jeden Tag abgelesen. Es ergab sich, daß die Flüssigkeit in den Pipetten täglich um 0,01—0,3 ml abnahm.

Als Kontrolle wurden bei diesen Versuchen 30 Bienen (je 10 Tiere in einem Kästchen) völlig mineralstofffrei gefüttert. Dadurch sollte festgestellt werden, ob die Biene als Imago Mineralstoffe braucht und ob bei salzfreier Ernährung Mangelercheinungen auftreten. Im Laufe der Versuche stellte sich heraus, daß die Bienen die eingewogene Ringerlösung den anderen Mineralösungen vorziehen. Der Durchschnitt der aufgenommenen Menge an Terrakoron ist höher als der von Fixanal, ein genauer Vergleich ist nicht möglich, da ein Teil der im Terrakoron enthaltenen Stoffe wasserunlöslich ist.

Der Versuch ergab aber, daß die völlig mineralstofffrei gehaltenen Tiere eine längere Lebensdauer hatten als die mit Mineralsalz gefütterten. Das ließ auf eine Mineralsalzvergiftung schließen (MAURIZIO 1951). Diese Beobachtungen zeigten, daß die Bienen überhaupt reine Mineralsalzösungen aufnehmen, ein richtiger Futterumsatz ist aber erst im Stock und bei einigermaßen natürlichen Bedingungen möglich. Bei den Kästchenversuchen fehlte vor allem auch die zu versorgende Brut.

IV. Versuche im Flugkäfig mit verschiedenen Lösungen

Versuchsanordnung. Zunächst wurde ein Flugkäfig von 3,50 m Länge, 2,50 m Breite und 2,00 m Höhe aufgestellt. Der ganze Käfig war mit feinmaschigem Drahtgitter bespannt und mit Drahtrollglas gedeckt. Auch die Westwand des Käfigs war mit Drahtrollglas bezogen. Dadurch wurde vermieden, daß der Regen seitlich in den Käfig hereinschlug. Das Dach war etwas abgeschrägt damit der Regen ablaufen konnte, der Boden wurde mit Dachpappe ausgelegt und dann mit einer Igelitfolie bespannt. Ein nicht zu starkes Volk konnte sich bei genügender Pollenfütterung im Käfig normal entwickeln und brütete auch ganz gut. Ich setzte jede Woche eine Pollenwabe zu und fütterte außerdem Haselpollen. Vor den Versuchen wurde jeweils frische Brut zugegeben. In der Zeit zwischen den Versuchen erhielten die Bienen 2 mol Saccharoselösung.

Nun wurden die Bienen an einen Futterplatz an der dem Stock entgegengesetzten Seite des Käfigs dressiert und durchgezeichnet. Bis die Bienen sich richtig eingeflogen hatten, wurde nur Zuckerwasser angeboten, dann ersetzte ich die Saccharose- durch offene Wasserschälchen. Diese Schälchen wurden alle 10 min gegeneinander vertauscht, um eine Ortsdressur möglichst auszuschalten. Außerdem wurden alle Stunden frische Schälchen zum Versuch verwendet, so daß eine Geruchsmarkierung durch die Bienen wegfiel. Zu der ersten Versuchsreihe verwendete ich Ringerlösung, Kondrauer Madonnenbrunnen und Terra-

koron. Die Hauptschwierigkeit bei den Untersuchungen lag darin, daß die Pollenfütterung nicht ausgesetzt werden konnte, da die Bienen sofort aufhören zu brüten, wenn sie ihn nicht haben. Im Pollen sind aber wie erwähnt Mineralstoffe enthalten, z. B. im Pollen von *Corylus Avellana*: K_2O 2,46 %, CaO 0,353 %, Fe_2O_3 0,114 %, P_2O_5 1,37 %, SiO_2 1,01 %. Das Versuchsvolk war ein ziemlich starkes Volk auf 6 Waben mit viel junger Brut. Es bekam laufend frische Brut und im Thermostaten geschlüpfte nach Tagen gezeichnete Jungbienen zugesetzt.

Schon während der ersten Versuchstage konnte eindeutig festgestellt werden, daß die Bienen Ringerlösung stark bevorzugen. Terrakoron wurde vollständig abgelehnt, ebenso in den meisten Fällen Wasser. Nach kurzer Zeit hatten sich einige Sammelbienen auf das Eintragen von Ringerlösung spezialisiert. In der Zeit von 10—16 Uhr erhielt z. B. am 22. 6.—24. 6. 54 die Ringerlösung 49 Besuche, während Terrakoronlösung, Kondrauer Madonnenbrunnen und Aqua bidest. nicht eingetragen wurden. Am 13. und 14. 8. 54 sammelten 369 Bienen Ringerlösung und nur 62 Aqua bidest.

Versuche mit verschieden verdünnter Ringerlösung. In den folgenden Tagen wurde den Bienen neben der normalen, eine doppelt bzw. dreifach verdünnte Ringerlösung angeboten. Die normale Ringerlösung wurde eindeutig bevorzugt, so wurde z. B. in einer Versuchszeit von 4 Std von 41 Bienen die Ringerlösung, von 20 Bienen die doppelt verdünnte Lösung eingetragen, während die dreifach verdünnte Lösung abgelehnt wurde.

Nebenbei machte ich eine interessante Beobachtung. Die Lösungen waren nach dem Versuch immer außen vor dem Käfig abgestellt und einmal vergessen worden. Als ich nach einiger Zeit wieder zum Käfig kam, sammelten Bienen aus anderen Stöcken an den Schälchen. In einer Beobachtungszeit von 2 Std konnte ich feststellen, daß sie die Ringerlösung eindeutig bevorzugten (es saß ein ganzer Bienenknäuel dort) und die doppelt verdünnte auch noch eintrugen. Die auf das Dreifache verdünnte Lösung wurde nicht gesammelt. Wenn auch der am Schälchen haftende Geruch der früheren Sammlerinnen diese Bienen vielleicht angelockt hatte, so sprach doch die Tatsache, daß sie die Ringerlösung bevorzugt eintrugen dafür, daß diese als Sammelgut wertvoll war und auch freifliegende Bienen sie eintragen, obwohl ihnen ja alle anderen Quellen für Mineralstoffe zur Verfügung standen.

Gibt es Mineralstoff- und Wassersammlerinnen? Am 16. 8. 54 wurden die beiden Völker in Beobachtungsstöcke gesetzt. Es zeigte sich, daß verschiedene Sammlerinnen der Ringerlösung tanzten und dabei die Lösung an andere auf der unteren Wabe sitzende Sammelbienen verfütterten. Biene Nr. 5, 6 und 105 gingen immer direkt auf die Brutwabe und gaben dort die Lösung an noch stark behaarte Jungbienen ab.

Dieselbe Beobachtung konnte ich auch in den darauffolgenden Versuchstagen machen. Die 3 Ringersammlerinnen lehnten Wasser eindeutig ab, kosteten zwar, trugen aber dann nur die Salzlösung ein. Sie hatten sich auf das Eintragen dieser Lösung spezialisiert.

Einflüsse auf den Bedarf an Wasser und Mineralsalzlösungen. Daß der von LINDAUER geschilderte Zusammenhang zwischen Temperatur und Wasserbedarf besteht, ließ sich leicht beobachten. Am Spätnachmittag schien an schönen Tagen bei meinen Versuchen die Sonne direkt in den Stock, dessen Seitenwände zur Beobachtung abgenommen wurden. Infolgedessen erhöhte sich die Temperatur im Stock. In dieser Zeit trugen die Bienen auffallend viel Wasser ein und ich konnte den größten Teil beim Rüsselschlagen sehen. Am 1. 9. 54 (von 15—16¹⁵ Uhr) benutzten von 13 Wassersammlerinnen 11 das Wasser zur Temperaturregelung und nur 2 gaben es an gezeichnete Sammelbienen ab. Von 16¹⁵—17²⁰ Uhr trugen 71 Bienen Aqua bidest. ein und nur 4 Bienen Ringerlösung, es kam demnach in jeder Minute mindestens 1 Biene um Wasser zu sammeln, während an der Ringerlösung nur alle 15 min ein Besuch zu verzeichnen war. Von den 71 Wassersammlerinnen benutzten 61 das Wasser zur Temperaturregelung und nur 10 gaben es an gezeichnete Sammelbienen ab. LINDAUER (1954) beschreibt dies als Werbung zum Wassersammeln. Bei der Gefahr der Stocküberhitzung sammeln also jedenfalls viel mehr Bienen Wasser als sonst. An kühlen regnerischen Tagen wurde dagegen kein Wasser eingetragen, während an der Ringerlösung alle 20—30 min ein Besuch zu verzeichnen war.

Schon bei diesen Versuchen ließ sich ein Zusammenhang zwischen dem Eintragen von Ringerlösung und dem Vorhandensein von Brut im Stock vermuten. An einem kalten Tag trugen z. B. die Bienen Nr. 5, 6 und 54 Ringerlösung ein und verfütterten diese an 5 Tage alte Ammen. Soweit unter diesen Bedingungen beobachtet werden konnte, gaben die Ammen die Lösung an die Maden weiter. Dies konnte erst in späteren Versuchen (s. S. 511) bewiesen werden. Über die Verwendung von Aqua bidest. und Ringerlösung gibt die Tabelle 1 Auskunft.

Tabelle 1

Datum: 28. 8.—2. 9. 54 Zeit: 10 ³⁰ —16 ⁰⁰ Uhr	Zellenauslecken Rüsselschlagen		Abgegeben an Sammelbienen (Tanz) Nr. der Bienen	Abgeben an die Brutwabe	
	am Flugloch	auf der Wabe		an ge- zeichnete Ammen	an unge- zeichnete Jung- bienen
Aqua bidest.	21	20	16		
Ringerlösung			17	22	16

Auch an anderen Tagen machte ich die Beobachtung, daß vorwiegend Ringerlösung eingetragen wird, wenn frische Brut vorhanden und der

Stock nicht überhitzt ist. So kamen z. B. am 2. 9. 54 als diese Bedingungen erfüllt waren, 48 Sammlerinnen von Ringerlösung an den Futterplatz und nur 7 Wassersammlerinnen. Gelegentlich ließ sich beobachten, daß Bienen, die sonst nur Saccharose eintrugen, im Bedarfsfall Wasser zur Temperaturregelung brachten, d. h. also, daß die Bienen, obwohl sie sich kurzfristig an eine bestimmte Tätigkeit binden (Mineralstoff-, Wasser-, Zuckerwassersammeln), entsprechend dem Bedarf des Stockes doch leicht von der einen zur anderen Tätigkeit übergehen.

Versuche mit Jauche und Teichwasser. Nach BUTLER und nach Beobachtungen von Imkern sammeln Bienen häufig Jauche. Es wurde deshalb neben Aqua bidest. und Ringerlösung Jauche angeboten. Während der ganzen Versuchszeit (3. 9.—16. 9. 54) wurde letztere nicht ein einziges Mal eingetragen.

Ich versetzte dann 10 ml Aqua bidest. mit 6 Tropfen Jauche. Die Bienen trugen Ringerlösung und Teichwasser ein, die in Konkurrenz geboten wurden und verfütterten diese teils an Sammlerinnen, hauptsächlich jedoch an Ammen auf der Brutwabe. Die Jauchelösung wurde nicht einmal gekostet, auch nicht als ich in der Konzentration variierte von 3—20 Tropfen Jauche auf 10 ml Aqua bidest. Ob die Bienen Jauche annehmen, wenn kein anderes Mineralwasser daneben angeboten wird, kann ich nicht entscheiden, ebensowenig ob andere Jauchesorten die Bienen zum Sammeln veranlassen.

Um auch die Verwendung von Teichwasser, das von den freifliegenden Institutsbienen eingetragen wird, zu studieren, wurde es den Sammlerinnen in Schälchen am Futterplatz geboten (Tabelle 2). 17 Bienen trugen am 3. 9. 54 Teichwasser ein, davon gaben 4 das Wasser an gezeichnete Brutpflegerinnen ab, 7 an gezeichnete Sammlerinnen, nur 3 verwendeten das Teichwasser zum Rüsselschlagen. Die Bienen benützen demnach das Teichwasser im Stock wie die Ringerlösung zur Brutpflege, daneben aber auch wie das Aqua bidest. zur Temperaturregelung. Da, wie erwähnt die Ringerlösung nie dafür verwendet wurde, können die Bienen diese von Teichwasser unterscheiden. Am 3. 9. sammelten nur 3 Bienen Ringerlösung, die an gezeichnete Brutammen weitergegeben wurde. Erst nach 16 Uhr holten mehrere Bienen Aqua bidest., das wie Teichwasser zum Rüsselschlagen verwendet wurde. In 1 Kilogramm Teichwasser sind enthalten: K^+ 5,9 mg, Na^+ 32,0 mg, Ca^{++} 70,4 mg, Mg^{++} 25,2 mg, NO_3^- 0,9 mg, Cl^- 41,5 mg, SO_4^{--} 92,6 mg, HCO_3^- 240,5 mg, HPO_4^{--} 0,32 mg. Der Eisengehalt des Bodensatzes pro Liter Wasser beträgt 1,46 mg.

Da BUTLER in seinen Versuchen feststellte, daß der Geruch des von ihm verwendeten Teichwassers stark anlockend wirkte, ließ er es 24 Std über Aktivkohle stehen und bot es dann den Bienen an. Das Teichwasser wurde in seinen Versuchen nach der Behandlung mit Aktivkohle

Tabelle 2

Datum: 4. 9. bis 9. 9. 54 Zeit: 11 ⁰⁰ bis 17 ⁰⁰ Uhr	Rüsselschlagen Zellenauslecken		Abgeben an die Brutwaben		Tanzen Abgeben an Sammel- bienen	Abgeben an unge- zeichnete Bienen	Summe der Sammel- bienen
	am Flugloch	auf der Wabe	an gezeich- nete Ammen	an unge- zeich- nete Jung- bienen			
Aqua bidest .	2	9				1	12
Ringerlösung			5	9	3	11	28
Teichwasser .		6			10		16

nicht mehr angenommen, wie BUTLER schließt infolge seiner Geruchlosigkeit. Da in meinen Versuchen das geruchlose Aqua bidest. und die ebenso geruchlose Ringerlösung eifrig eingetragen worden waren, konnte ich von vornherein nicht erwarten, daß geruchlose Stoffe abgelehnt werden. Die Bienen flogen in meinen Versuchen sämtliche Schälchen an und trugen die Lösung nach Bedarf ein. (Ringerlösung, Teichwasser, Aqua bidest. Teichwasser, das 24 Std über Aktivkohle gestanden hatte.) Ich konnte höselartige Bewegungen der Hinterbeine und das charakteristische Ausstrecken des Rüssels bei Auffinden des Wassers beobachten, das schon HERTZ beschreibt. Im Fliegen konnten die Bienen auch die Saccharoselösung von den anderen dargebotenen nicht unterscheiden, sondern erst nach kosten. Am 10. 9. 54 wurde Saccharoselösung neben Ringerlösung, Teichwasser, das über Aktivkohle gestanden hatte und Aqua bidest. angeboten. Von 6 Wassersammlerinnen trugen in 3 $\frac{1}{2}$ Std 4 Bienen Teichwasser, eine Ringerlösung und nur eine Aqua bidest. ein. Da keine offene Brut vorhanden war, wurde alles Wasser außer der Ringerlösung zur Temperaturregelung verwendet. Teichwasser wurde demnach in Völkern die Brut enthalten wie Aqua bidest. behandelt, (Tabelle 3). Diese Versuche wurden vom 10. 9.—16. 9. wiederholt.

Zusammenfassend glaube ich sagen zu können, daß die Wasserauswahl der Bienen nicht von geruchlichen Faktoren bestimmt wird, sondern die im Wasser gelösten Mineralstoffe geschmacklich berücksichtigt werden, wie der Zucker. Das reine Aqua bidest. wurde auch in diesem Fall ausschließlich, das Teichwasser fast nur zur Temperaturregelung benutzt, während die Ringerlösung an Brutammen weitergegeben wurde. *Die Menge des eingetragenen Aqua bidest. hängt von der Temperatur, und die Menge der gesammelten Mineralsalzlösungen von der Menge der offenen Brut im Stock ab.*

Hat die Zusammensetzung der Ringerlösung für die Bienen Bedeutung? Die Ringerlösung ist eine aus verschiedenen Salzen zusammengesetzte Nährlösung. Es interessierte, ob für die Bienen einzelne dieser Salze besondere Bedeutung haben und so bevorzugt aufgenommen werden.

Tabelle 3

Datum: 10. 9. bis 22. 9. Zeit: 10—17 Uhr	Temperaturregelung Zellenauslecken Rüsselschlagen		Abgeben auf der Brutwabe		Tanzen Abgeben an Sammel- bienen	Abgabe an unge- zeichnete Bienen
	am Flugloch	auf der Wabe	an ge- zeichnete Ammen	an unge- zeichnete Jung- bienen		
Aqua bidest. . .	12	15			5	10
Ringerlösung . .			8	9	2	1
Teichwasser . .	1	3	1		2	
Tw + C	1					

Tw + C = Teichwasser, das über Aktivkohle gestanden hatte.

Nach v. FRISCH (1934) sind die Bienen für NaCl-Geschmack empfindlicher als wir. Die einzelnen Komponenten der Lösung sollten genauer auf ihre Beliebtheit bzw. Notwendigkeit im Bienenvolk geprüft werden. Dazu stellte ich verschiedenen konzentrierte Lösungen dieser Salze her, z. B. NaCl in Stufen von 0,3—1 mol. Beim Versuch mußte sich zeigen, welche Konzentrationen bevorzugt werden. Neben den verschiedenen Konzentrationen der reinen NaCl-Lösung stellte ich am Futtertisch eine Ringerlösung auf, in der alle Natrium- durch Kaliumsalze ersetzt waren. Eine Verbindung wurde jeweils herausgegriffen, in verschiedenen Konzentrationen rein angeboten und in der Ringerlösung durch ein anderes Salz ersetzt, z. B. NaCl durch KCl. Auf diese Art wurde NaCl, KCl, CaCl_2 , MgSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 und NaH_2PO_4 untersucht.

Ich stellte die Schälchen in einer Reihe auf und erneuerte sie stündlich. Alle 10 min wurden sie gegeneinander vertauscht, um eine Ortsdressur zu verhindern. Sie standen nicht nach Konzentrationen gestaffelt, sondern willkürlich. Bei der NaCl-Lösung wurden die konzentrierteren Lösungen häufiger eingetragen als die weniger konzentrierten. Die Ringerlösung ohne Na wurde jedoch bevorzugt (Abb. 2). KCl-Lösung wurde in allen Konzentrationen nur wenig eingetragen, hier wurde die Ringerlösung ohne Kalium stark bevorzugt. Auch NaH_2PO_4 wurde wenig gesammelt, während das entsprechende Kaliumsalz in denselben Konzentrationen besser angenommen wurde. CaCl_2 -Lösung wurde in den niederen Konzentrationen eifriger eingetragen, viel weniger jedoch als die CaCl_2 freie Ringerlösung. NaHCO_3 wird ebenso wie MgSO_4 kaum angenommen (Abb. 3). Die Versuche ergaben, daß die Bienen verschiedene Mineralsalzlösungen deutlich voneinander unterscheiden können und daß sie bestimmte Stoffe z. B. NaCl zusätzlich eintragen.

Steht die Bevorzugung von Ringerlösung im Zusammenhang mit der Menge offener Brut im Stock? Bei den bisher durchgeführten Versuchen war bereits die anscheinend vorhandene Abhängigkeit des Bedarfs an Ringerlösung von der Menge der offenen Brut im Stock aufgefallen.

Diese Beobachtungen sollten 1955 genauer überprüft werden. Dazu wurden in die bereits vorhandenen Flugkäfige 2 gleich starke Völker mit je 5 Waben gesetzt und zunächst auf Zuckerwasser dressiert. Die Bienen waren zu der Zeit noch in normalen Kästen, da das Wetter unbeständig und nachts relativ kühl war. Beobachtungsstöcke geben nur einen schlechten Schutz gegen Kälte. Die Völker waren im guten Zustand mit einer größeren Menge offener Brut. Ich ersetzte die Saccharoselösung

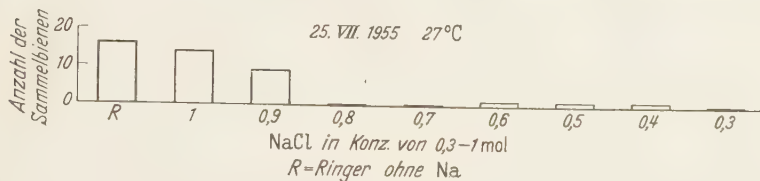


Abb. 2. Anzahl der Sammlerinnen an Ringerlösung ohne Na^+ und an NaCl -Lösungen verschiedener Konzentrationen

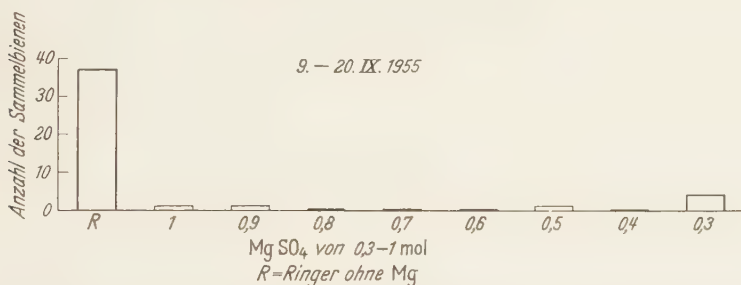


Abb. 3. Anzahl der Sammlerinnen an Ringerlösung ohne Mg^{++} , sowie MgSO_4 -Lösungen verschiedener Konzentrationen

an welche die Bienen gewöhnt waren, durch Ringerlösung und Aqua bidest. Wie im Vorjahr wurde die Ringerlösung bevorzugt aufgenommen. So waren z. B. im Durchschnitt auf den ganzen Tag berechnet 18 Bienen in 15 min an der Ringerlösung, während nur 3—4 Bienen das daneben aufgestellte Teichwasser sammelten. Die folgenden Tage ergaben das gleiche Bild.

Am 9. 6. gab ich den Völkern zusätzlich 3 Waben mit offener Brut und eine Pollenwabe. Sehr viele Zellen standen kurz vor der Deckelung. Daraufhin stieg der Bedarf an Ringerlösung sprunghaft an (Abb. 4). Das Abfallen der Kurve am 10. und 11. 6. kann mit dem nun erfolgten Deckeln der Zellen in Zusammenhang gebracht werden. Die Kurve zeigt auch, daß der Bedarf an Ringerlösung nicht von der herrschenden Temperatur abhängig ist, z. B. am 9. und 13. 6. Ich beobachtete die Bienen bis 18. 6., sie sammelten eifrig Ringerlösung. Nun nahm ich alle offene Brut weg und gab ihnen dafür leere Waben, sowie eine Pollenwabe. Das Volk hatte nur noch gedeckelte Brut oder Eier. Sofort war

ein sehr starkes Absinken des Bedarfs an Ringerlösung festzustellen (Abb. 4). Die Bienen sammelten Saccharoselösung. Ringerlösung wurde überhaupt nicht eingetragen, während der Bedarf an Aqua bidest. unverändert war. Wegen der warmen Witterung war Temperaturregelung im Stock nötig.

Nach 4 Tagen, also am 25. 6., holten die Bienen wieder wie gewohnt die Ringerlösung, es waren auch dieselben gezeichneten Bienen wie vorher und nun stieg der Bedarf an dieser kontinuierlich an. Sie hatten jetzt selbst wieder offene Brut nachgezogen. Die Menge der offenen Brut beeinflusste also auf das Deutlichste den Bedarf an Ringerlösung (Abb. 4).

Um die Verwendung der Salzlösung im Stock genauer zu beobachten, wurden im Winter 1955 in einem Bienenraum, der nach RENNER (1955) eingerichtet war, die Versuche fortgesetzt. Es sollte direkt beobachtet werden, wohin die eingetragene Ringerlösung von den Sammlerinnen gebracht wird. Das Versuchsvolk wurde wie üblich mit Zuckerwasser gefüttert und bekam jede Woche eine Pollenwabe.

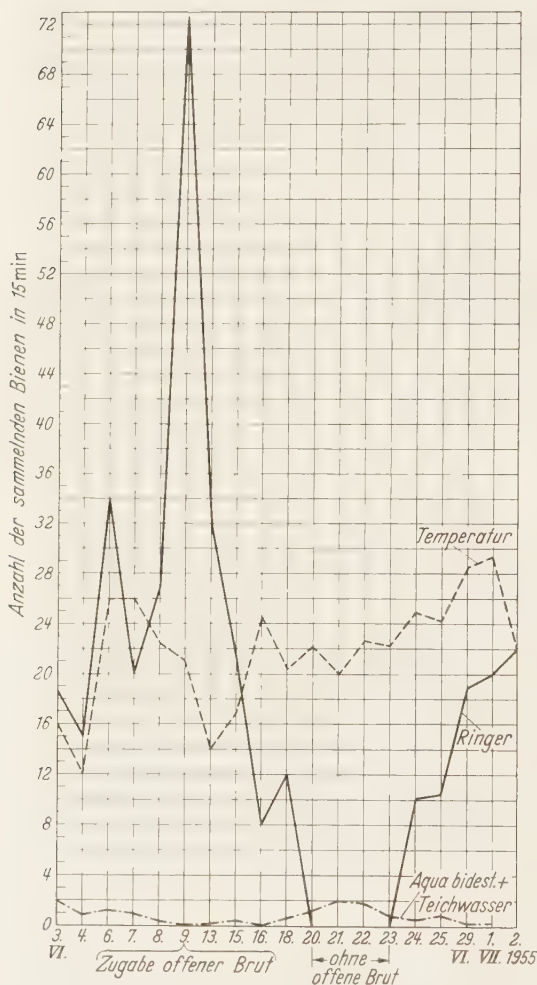


Abb. 4. Die Kurven zeigen die Menge der Sammlerinnen an der Ringerlösung sowie an Wasser in Abhängigkeit von der Menge offener Brut im Stock

Um die einzelnen Tiere besser beobachten zu können, wurde das Volk vor dem Versuch durchgezeichnet. Die Ringerlösung färbte ich zur Sichtbarmachung im Stock nach der Methode von Dr. LINDAUER mit Konditorfarbe. Unter diesen wenig natürlichen Verhältnissen flogen die

Bienen nicht so gut wie im Freilandversuch und außerdem konnten wegen der Jahreszeit keine frischen Brutwaben eingesetzt werden. So war ich oft gezwungen, längere Pausen einzuschalten bis das Volk selbst genügend Brut hatte und die Ringerlösung eintrug. (Die Versuche wurden vom 13. 1.—12. 3. 55 durchgeführt.)

Am 16. 1. z. B. verkehrte wieder eine zwar kleine, aber gut eingeflogene Schar von Ringerbienen am Futterplatz. Diesmal konnte ich beobachten, daß die Bienen die Lösung sehr häufig in die Zellen spuckten. Es waren aber ausschließlich Zellen mit Maden. So sammelte z. B. Nr. 4 in regelmäßigen Abständen von 3—10 min, ging direkt zur Brutwabe und ich konnte 7mal beobachten, wie sie die Lösung in Wabenzellen spuckte. Biene Nr. 10 verwendete die Lösung zur Temperaturregelung, sie saß meist rüsselschlagend nahe am Flugloch. Während des Versuchs gab ich den Bienen nur Ringerlösung, kein Aqua bidest. Es war das erste Mal, daß Ringerlösung zur Temperaturregelung verwendet wurde, anscheinend nur weil kein Aqua bidest. zur Verfügung war. Von 10 Sammlerinnen benutzten 2 die Ringerlösung zur Temperaturregelung, die anderen (5) gaben sie an Brutammen ab und 3 spuckten sie direkt in Brutzellen.

In diesem Vorversuch konnte ich also direkt beobachten, daß ein Großteil der Ringerlösung an Brutammen oder direkt in Brutzellen gegeben wurde; die rote Farbe war in den Zellen sichtbar. Allerdings konnte die Lösung nur bis in die Brutzellen verfolgt werden. Ob sie von den Maden aufgenommen wird, konnte mit dieser Methode nicht mehr geprüft werden. Um diese Frage zu klären, sollte in den folgenden Versuchen die Ringerlösung radioaktiv markiert und so im Stock verfolgt werden.

V. Radiologischer Teil

Diese Versuche wurden wegen der Materialschwierigkeiten und der fehlenden Apparaturen im Radiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br. durchgeführt¹.

Mit Hilfe eines Zählrohrs kann man, wie bekannt, den Verbleib radioaktiv markierter Stoffe im Körper direkt verfolgen. In diesem Fall sollte der Verbleib und auch die Umsetzung in einem Bienenstock studiert werden. Wie sich bei den Versuchen von NIXON und RIBBANDS gezeigt hatte, ist das auch sehr gut möglich. Als radioaktives Isotop wurde ³²P verwendet, da es eine günstige Halbwertszeit hat und auf Grund seiner Energie gut zu verfolgen ist. Um die Verseuchung eines

¹ An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. H. LANGENDORFF, Direktor des Radiologischen Instituts Freiburg i. Br. und Herrn Prof. Dr. K. PHILIPP für die großzügige Unterstützung und Hilfe herzlich danken.

ganzen Bienenvolkes zu vermeiden, wurden zunächst Fütterungsversuche mit einzelnen Bienen durchgeführt.

1. Fütterungsversuche mit Ringerlösung, die mit radioaktivem ^{32}P markiert war. Die vorhergegangenen Versuche hatten gezeigt, daß die Ringerlösung von den Bienen bevorzugt aufgenommen wurde. Zunächst sollten erwachsene Bienen im Kästchen mit einer mit ^{32}P markierten Lösung gefüttert werden. Da aber der Bedarf an reiner Mineralstofflösung bei erwachsenen Bienen sehr gering ist, wurden die einzelnen Salze einer Zuckerlösung beigemischt. Es wurde also eine 2 mol Saccharose-Lösung verwendet, der auf 100 ml Aqua bidest, 0,65 g NaCl, 0,014 g KCl, 0,012 g CaCl_2 , 0,02 g NaHCO_3 zugesetzt waren. Nun wurden 20 ml dieser Lösung abgenommen und mit 40 μC ^{32}P (als Natriumphosphat) versetzt, wie es NIXON und RIBBANDS in ihren Versuchen gemacht hatten.

Wegen des radioaktiven Zerfalls des Isotops wurden jeweils nur kleine Mengen der Ringerlösung mit ^{32}P markiert, um einen annähernd konstanten Gehalt an ^{32}P in der zum Versuch verwendeten Lösung zu erhalten.

2. Vorbereitung der Bienen für die Versuche mit Isotopen. Die Versuche mit Isotopen wurden mit Sammelbienen (10 Wassersammlerinnen) und Jungbienen durchgeführt. Die ersteren wurden von der Tränke weggefangen und 24 Std im Thermostat (25° C) in einem Kästchen aus einer Pipette gefüttert. Die Zuckerlösung war mit Aqua bidest. angesetzt worden, um einen gewissen Mineralstoffhunger zu erreichen. Nach 24 Std bekamen die Bienen die aktive, mit Mineralstoffen versetzte Saccharoselösung. Sechs Jungbienen wurden, um auch Bienen mit gut entwickelten Futtersaftdrüsen im Versuch zu haben, mit den Sammelbienen in einem Kästchen gefüttert. Um eine äußerliche Verschmutzung zu vermeiden, erhielten sie ebenso wie die erwachsenen Bienen die Lösung aus einer graduierten Pipette mit sehr feiner Öffnung, die so flach in das Kästchen eingeführt wurde, daß die Lösung nur nachlief, wenn eine der Bienen an der Öffnung saugte. Alle Bienen tranken von der aktiven Lösung und hatten in 24 Std 0,78 ml aufgenommen. Außerdem wurden frischschlüpfende Bienen in einem Kästchen mit der markierten Lösung gefüttert. Die jungen Bienen wurden mit der Pinzette aus den noch gedeckelten Zellen genommen, konnten also nichts außer dem Futtersaft gefressen haben. Diese Bienen wurden mit einer dünnen Pipette von der Hand mit markierter und mit Mineralstoffen versetzter Saccharoselösung gefüttert: sie konnten noch nicht selbst das Futter finden und den Rüssel einführen.

Um die Speicherung des radioaktiven ^{32}P in den einzelnen Organen zu verfolgen, wurden die getrockneten Präparate im Geiger-Müller-Zählrohr

auf ihre Aktivität untersucht. Tabelle 4 zeigt die erhaltenen Resultate nach Abzug des Nulleffekts. Es fällt der relativ hohe Wert des Hirns auf.

Alle untersuchten Organe hatten demnach das Isotop aufgenommen. Da der Darm eventuell noch Nahrung enthielt, konnte in diesem Fall nicht festgestellt werden, ob das Isotop in die Darmzellen aufgenommen worden war. Dies wurde später (s. S. 521) an Mikroradiographien gezeigt.

Tabelle 4 Versuch vom 22. 4. 56. Impulse (Imp./Tier. Mittelwerte von 6 Tieren)

Organe	Imp./min	Imp./mg
Hirn.	278	488
Futtersaftdrüse . .	77	192
Hinterhauptdrüse .	11	393
Darm	5580	2425

Anfertigung von Kontaktautoradiographien. Um die Verteilung des Isotops in den Organen genauer zu studieren, sollten Kontaktradiographien hergestellt werden. Eine mit ^{32}P gefütterte Biene wurde nach 24 Std am Abdomen dorsal geöffnet, das Chitin abgelöst und der ganze Darmtrakt und Fetteiweißkörper seitlich herausgelegt. Thorax und Kopf wurden abgetrennt, der Kopf an der Stirnseite flach aufgeschnitten,

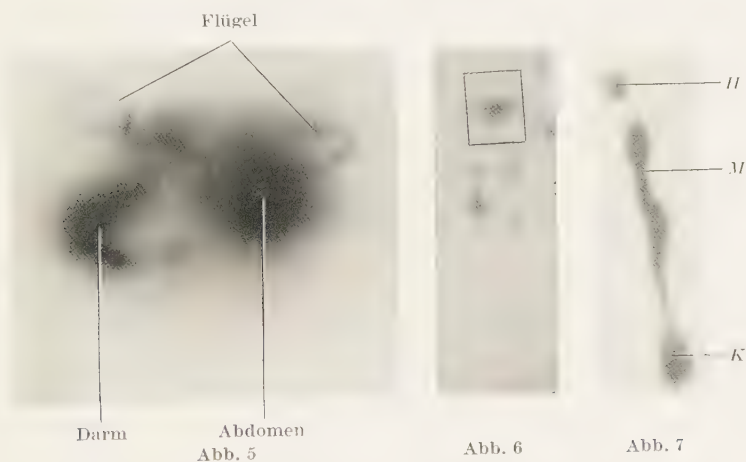


Abb. 5. Kontaktautoradiographie einer aufpräparierten Arbeitsbiene

Abb. 6. Kontaktautoradiographie des Gehirns (eingerahmt) einer Sammelbiene

Abb. 7. Kontaktautoradiographie des Darms einer Sammelbiene. H Honigmagen, M Mitteldarm, K Kotblase

so daß Gehirn und Drüsen freilagen. Der Thorax wurde ventral aufpräpariert. Um einen Gesamtüberblick über die Einlagerung des radioaktiven ^{32}P in den Organen zu erhalten, wurde die, wie oben beschrieben, aufpräparierte Biene auf eine photographische Platte gelegt. Die erhaltene Kontaktautoradiographie ist in Abb. 5 wiedergegeben. Sie zeigt,

daß die Bienen reichlich ^{32}P enthalten, nicht nur im Darm, sondern auch im Körper ohne Darm.

Um die Verteilung des Phosphors in den Bienenorganen genauer zu studieren, wurden sie isoliert untersucht. Sie wurden präpariert und zur Anfertigung von Kontaktautoradiographien auf Photoplatten gelegt. Alle untersuchten Organe enthielten reichlich ^{32}P (Abb. 6—10).

Ausmessen von Blut. Um die Menge des im Blute enthaltenen aktiven Phosphors prüfen zu können, entnahm ich 4 Bienen mit einer haarfein ausgezogenen Kapillare das Blut aus der Leibeshöhle (BEUTLER 1936). Das Blut von jeweils einer Biene wurde auf ein Stückchen Filtrierpapier gegeben, getrocknet und gemessen. Die Tabelle 5 gibt die Aktivität abzüglich des Nulleffekts wieder.

Tabelle 5

Blut eines Tieres	Imp./min	Imp./mg
Blut . . .	1327	442
Blut . . .	1312	437

Demnach enthält auch das Bienenblut das Isotop.

Fütterung erwachsener Königinnen mit ^{32}P . Bienenköniginnen¹ wurden nach Zugabe einiger Pflegebienen in Kästchen, die im Thermostat standen mit ^{32}P -haltiger Zuckerlösung gefüttert. Nach 3 Tagen wurden

Hirn, Flugmuskulatur, Ovarien, Darm und Drüsen der Königinnen präpariert und davon teils Kontaktradiographien, teils Mikroautoradiographien angefertigt (Abb. 10 und 19).

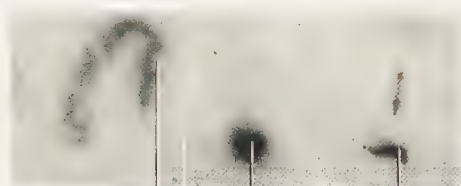
Futtersaftdrüse
Abb. 8Flugmuskulatur
Abb. 9Ovar
Abb. 10

Abb. 8. Kontaktautoradiographie der Futtersaftdrüse einer Brutamme

Abb. 9. Kontaktautoradiographie der Flugmuskulatur einer Sammelbiene

Abb. 10. Kontaktautoradiographie des Ovars einer begatteten Königin

Fütterung eines Bienenvolkes mit Ringerlösung und ^{32}P .

Um die Verteilung des Isotops in den Waben zu verfolgen, wurde ein kleines Begattungsvolk mit einer Brutpollenwabe versehen. In den Brutraum kam etwas Futterteig sowie

ein gebogenes Glasrohr mit ^{32}P -haltiger Ringerlösung. In 2 Tagen wurden 1,2 ml dieser aktiven Lösung verbraucht und jeweils wieder ersetzt. Nach 19 Tagen wurde der Stock geöffnet. Das Volk war ohne Königin, hatte aber noch gedeckelte Brut, ein Weiselnäpfchen und Drohneneier. Die Wabenstücke wurden, nachdem die Deckel der Brutzellen abgehoben waren, mit dem Zählrohr ausgemessen und gaben

¹ Herrn Dr. KAESER dem Leiter des Instituts für Bienenkunde i. Freiburg und Herrn Dr. BUCHNER bin ich für die rege Auteilnahme an meiner Arbeit und Beschaffung wertvollen Bienenmaterials zu Dank verpflichtet.

die folgenden Impulse (Tabelle 6). Die Buchstaben entsprechen den auf der Photographie (Rückseite der Wabe) eingezeichneten Meßbereichen (Abb. 11).

Der Honigbereich der Brutwabe ergab bei der Messung 1136 l./min. Dieser Wert ließ sich daraus erklären, daß dem Honig sowie dem Pollen Zellsekrete der Biene beigemischt werden, welche nach der Fütterung mit aktiver Ringerlösung ebenfalls radioaktiv sein müssen. Außerdem liegt die Vermutung nahe, daß die in der Luft, bzw. im Regenwasser angereicherten radioaktiven Substanzen im Pollen, im Nektar und damit auch im Honig nachgewiesen werden können. Ich hatte diese Beobachtung nicht nachgeprüft, da sie für vorliegende Arbeit nicht von Interesse war.

Die Hauptaktivität beschränkt sich auf die Wabenstücke in denen Brut vorhanden ist. Die Radiographien wurden nach 4 Tagen entwickelt und zeigen deutlich die Schwärzung in den Brutzellen (Abb. 12). Bemerkenswert ist, daß ausschließlich die Zellen mit Brut eine Schwärzung aufweisen, während die nicht bestiftete Wabe und frisch abgelegte Eier ohne jede Schwärzung sind. Das bedeutet, daß die von den Bienen aufgenommene markierte Ringerlösung ausschließlich an die Brut weitergegeben wird. Diese Tatsache sollte mit einem größeren Bienenvolk geprüft werden.

Fütterung eines normal starken Bienenvolkes im Beobachtungsstock. Als zweiter Versuch wurde ein Beobachtungsvolk auf einen 5—6 m entfernten Futterplatz dressiert. Vorher waren sämtliche anderen Völker von dem Versuchsstand weggebracht und außerdem alle in der Nähe gelegenen Wasserpfützen oder anderen Wasserstellen zugeschüttet worden. So konnten also weder fremde Bienen an der aktiven Lösung trinken und somit andere Völker verseuchen, noch meine Versuchsbienen ihren Wasserbedarf an natürlichen Tränken decken. Sie waren ausschließlich auf die von mir gebotenen Lösungen angewiesen. Die Bienen des Versuchsvolkes waren mit einem weißen Farbtupfen am Abdomen gekennzeichnet. Außerdem wurden alle am Futterplatz verkehrenden Sammelbienen nummeriert. Neben dem Zuckerwasser

Tabelle 6

Vorderseite der Wabe mit	
Weiselnapfchen:	
a)	1863 Imp./min
b)	1046 Imp./min
c)	1372 Imp./min
d)	522 Imp./min
e)	284 Imp./min
f)	36 Imp./min
Brutraum (Mittelwert) . .	1818 Imp./min
Honigbereich der Brutwabe	1136 Imp./min
Rückseite der Wabe ohne	
Weiselzelle:	
a)	2492 Imp./min
b)	1754 Imp./min
c)	361 Imp./min
d)	466 Imp./min
e)	709 Imp./min
f)	355 Imp./min

wurde dauernd Ringerlösung und Aqua bidest. geboten und vor allem die Ringerlösung auch sehr gut eingetragen. Nun wurden beide Waben des

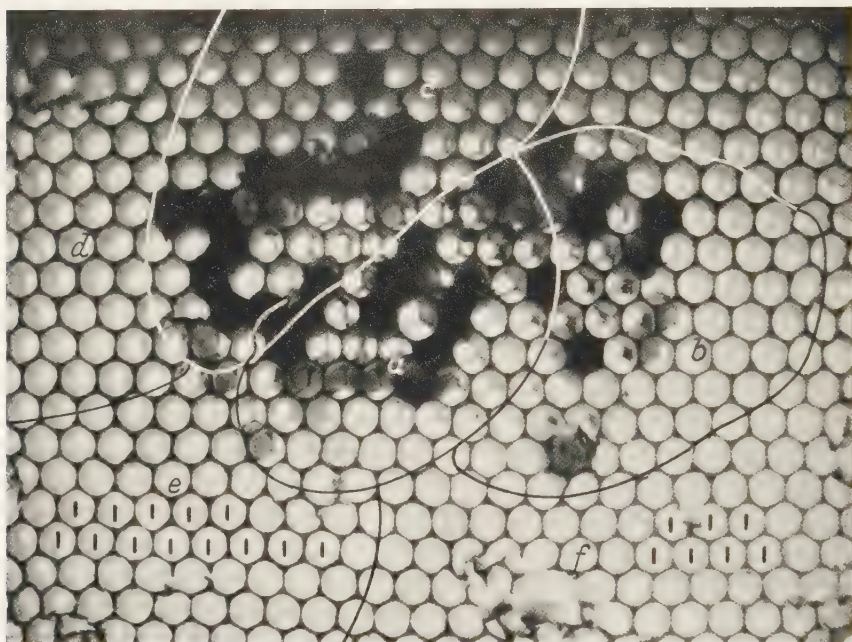


Abb. 11

Abb. 11. Photographie der Wabe mit eingezeichneten Meßbereichen. Rückseite der Wabe ohne Weiselzelle. a + b + c = gedeckelte Brut, d = ohne Brut, e + f – mit Eiern bestiftete Wabe



Abb. 12

Abb. 12. Kontaktautoradiographie der Wabe. Die Deckel der Zellen wurden vor dem Ausmessen und Auflegen der Wabe abpräpariert

Beobachtungsstockes durch Brut-Pollenwaben ersetzt. Das Volk hatte also sehr viel offene Brut. Weiter hatte heißes, trockenes Wetter eingesetzt. Die Bienen sammelten sehr gut. Nachdem die Bienen am Futterplatz gut eingeflogen waren, wurde die normale Ringerlösung durch

mit aktivem ^{32}P markierte Ringerlösung ersetzt (40 ml Ringerlösung + 120 $\mu\text{C } ^{32}\text{P}$). Die Aktivität war den Vorversuchen gegenüber erhöht worden, sie war so im Stock leichter nachzuweisen. Auch diese stark aktive Lösung wurde von den Bienen ohne Schwierigkeit eingetragen.

Um eine Tränke zu errichten, an der die Bienen saugen, aber sich äußerlich nicht verseuchen konnten, wurden die Bienen aus einem pneumatischen Futtergefäß gefüttert. Dieses wurde auf eine flache, mit Wasser gefüllte und mit einem Drahtnetz abgedeckte Petrischale gestellt. Der Wasserspiegel in der Petrischale war so weit unter dem Drahtnetz, daß die Bienen das Wasser nicht erreichen konnten. Durch den erhöhten Wasserdampf der Luft fanden sie, vor allem Neulinge, leichter an den Futterplatz.

Schon nach kurzer Zeit herrschte reger Flugverkehr an der Tränke. Nachdem die Schar der Wassersammlerinnen groß genug war, wurden alle Neulinge in ein Kästchen gesperrt. Die mar-

kierte Ringerlösung wurde, wie in den früheren Versuchen, im Stock an gezeichnete Brutammen abgegeben oder direkt in Madenzellen gespuckt. Nach 6 Std wurden dem Stock

Tabelle 7

Präparat	Imp./min/Tier im Mittel	Imp./mg
5 Tage alte Larven . . .	28	17,6
Alte Larve	61	229
Soeben gedeckelte Made	15	6,25
Bereits vorhergedeckelte Made	0	0

die ersten Bienen entnommen und zwar Maden verschiedenen Alters, Drohnen, Jungbienen und Arbeiterinnen. Die Messungen der Maden zeigte, daß junge Larven bereits aktiv waren, während die schon gedeckelten Maden sich als völlig inaktiv erwiesen. Es konnte also keine allgemeine Verseuchung des Stockes stattgefunden haben (Tabelle 7).

Die nach 11 Tagen herausgenommenen Waben wurden ausgemessen und auf Photoplatten gelegt. Vorher waren aus dem Volk Bienen aller Altersstadien und Stockaufgaben, Drohnen, die Königin und verschieden alte Maden herausgenommen worden. Diese Bienen wurden zunächst im Probenwechsler durchgemessen und anschließend teils zur Herstellung von Kontaktradiographien verwendet, teils in Paraffin eingebettet. Es wurden allerdings nur Bienen mit nennenswerter Aktivität weiter verarbeitet. Außerdem war von jedem Präparat eine histologisch gefärbte Kontrolle angefertigt worden.

Untersucht man Maden oder Nymphen aus benachbarten Zellen eines Brutnestes die etwa gleich alt sind, so ist die Impulszahl ziemlich übereinstimmend, wie eine Messung von 3—4 Tage alten Maden zeigte. Die Impulse pro mg waren 442, 427, 429, 431. Die in Tabelle 8 ermittelten Werte schwanken stärker. Sie sind davon abhängig wie oft eine Made

radioaktiven Futterstoff erhalten hat. Die durchgeführten Messungen haben deutlich gezeigt, daß die radioaktive Lösung in den Futtersaft übergeht und dann an die Brut weitergegeben wird. Die anfänglich zunehmenden Impulszahlen fallen allmählich wieder. Die schlüpfende Biene zeigte fast keine Impulse mehr, die über jene der üblichen Verunreinigungen hinausging. Da sie vor Beginn der Fütterung (24. 7. bis 4. 8.) schon verpuppt war. Wie früher erklärt sich die abnehmende Aktivität der Entwicklungsstadien damit, daß die ältesten am wenigsten, die jüngsten am meisten vom markierten Futter erhalten haben. Nachdem die dem Stock entnommenen Waben durchgemessen worden waren, wurden die Brutnester herausgeschnitten und auf Photoplatten gelegt.

Tabelle 8

	Imp./min	Mittelwert Imp-/min	
2 Tage alte Maden . .	334—2284	677	14 Tiere
3—4 Tage alte Maden	427—1843	710	14 Tiere
5—6 Tage alte Maden	211—1250	644	4 Tiere
Rundmaden	239—1523	455	15 Tiere
Puppen	169—562	380	16 Tiere
Nymphen	155—562	304	8 Tiere
Schlüpfende Biene . .	16—18	17	6 Tiere
Futtersaft jeweils aus einer Madenzelle < 1 mg	726—820	755	3 Zellen

Durch diese Kontaktaufnahme wurde die frühere Beobachtung, daß nur mit Brut besetzte Zellen aktiv sind, während die übrige Wabe völlig inaktiv ist, bestätigt. Das Bild entsprach dem der Abb. 12.

Mikroautoradiographie. Die nach der geschilderten Kontaktmethode hergestellten Autoradiographien lassen nur die grobe Verteilung der markierten Substanz in ganzen Organen oder Gewebstücken erkennen. Zur Feststellung feinerer Details verwendet man sehr feinkörnige Emulsionen, die nach der Entwicklung eine starke Vergrößerung erlauben, so daß man von dem Objekt, besonders auch von mikroskopischen Schnitten Mikroaufnahmen anfertigen kann (Mikroautoradiographie). Am meisten verwendet man für solche Aufnahmen den sog. „stripping“-Film, einen nur 15 μ dicken Spezialfilm, dessen sehr dünne Emulsionsschicht (5 μ) auf einer ebenfalls dünnen Gelatineschicht (10 μ) als Trägersubstanz aufgetragen ist. Der Film befindet sich auf einer Glasplatte, von der er vor Gebrauch abgestreift wird.

Einbettung. Bienen wurden mit einer Zuckerlösung gefüttert, die mit ^{32}P markiert worden war. Sie wurden nach einer Hungerzeit von 6–7 Std präpariert und in Carnoy fixiert. Die Einbettung in Paraffin erfolgte möglichst schnell und unter Weglassung verschiedener Zwischenstufen, z. B. Methylbenzozat II und III.

Anbringung der Schutzschicht zwischen Präparat und Film. Um chemische Beeinträchtigungen der Filmemulsion durch die Gewebe zu vermeiden, erwies es sich als günstig zwischen Präparat und Emulsion eine dünne Schutzschicht zu bringen: Plexiglas nach PASSALAGUA, Zaponlack oder Cyclonlack nach der Vorschrift des radiologischen Instituts Freiburg i. Br.

Eindecken mit Cyclonlack. Der Schnitt wird entparaffiniert, aus dem Xylol in den absoluten Alkohol übergeführt und dann mehrmals in absolutem Alkohol geschwenkt, um alles Xylol zu entfernen. Nun muß der Schnitt gut trocknen, was bei absolutem Alkohol sehr rasch geschieht, und wird dann mit einer möglichst dünnen Schicht Cyclonlack überzogen. Diese Methode hat den Vorteil, daß die absteigende Alkoholreihe ganz vermieden wird und der Schnitt in wesentlich kürzerer Zeit eingedeckt ist. Eine Messung der Präparate mit und ohne Lack zeigte, daß die vom Lack absorbierte Menge der Strahlung sich in erträglichen Grenzen bewegt (Tabelle 9).

Tabelle 9

Messung: Präparat I	22 Imp./min	mit Lack	15 Imp./min
Präparat II	26 Imp./min	mit Lack	21 Imp./min

Bei der geringen Impulszahl mußte sehr lange exponiert werden. In einigen Fällen wurde der Film direkt auf das Präparat gelegt. Nach Beendigung der Expositionszeit werden Film und Objekt in den Entwickler gebracht (bei Kodak-Stripping-Filmen am besten Kodak-Entwickler D 19b), anschließend fixiert und gehärtet und danach gründlich gewässert. Um Staubpartikel zu entfernen, empfiehlt es sich, alle Lösungen und Flüssigkeiten vor Gebrauch durch ein Glasfilter zu filtrieren. Nach Trocknung der Filmschicht können die Präparate mit normalen histologischen Methoden gefärbt oder sofort mit dem Phasenkontrastverfahren mikroskopiert werden.

Die folgenden *Mikroautoradiographien* zeigen die Einlagerung von ^{32}P in die einzelnen Organe der Biene. Es ist zu beachten, daß jede Schwärzung im Bild das Vorhandensein von ^{32}P anzeigt. Bei Maden bzw. Puppen kann man eine deutliche Schwärzung im Fettgewebe und in den chitinbildenden Randbereichen feststellen. Außerdem ist ^{32}P im Darmepithel und in den Malpighischen Gefäßen gespeichert (Abb. 13). Bei der jungen Made ist der Phosphor noch in den Fettzellen eingelagert, während er bei der Puppe diffus im Gewebe verteilt ist (Abb. 14).

Das bedeutet also, daß der Phosphor zunächst in den Maden gespeichert im Lauf der Puppenruhe abgebaut und unter anderem von den Chitinbildungszellen gebraucht wird. Der abgezogene und anschließend photographierte Film des Fettgewebes einer Puppe zeigt deutlich die diffuse Einlagerung des Phosphors (Abb. 14).

Bei der Imago zeigen die sezernierenden und die Regenerationszellen des Mitteldarmepithels eine deutliche Schwärzung der Kerne. Hier wird ^{32}P gespeichert. Im Gegensatz dazu ist im Lumen keine deutliche Anreicherung festzustellen, es ist ja auch nicht anzunehmen, daß im Darmlumen ^{32}P gespeichert wird (Abb. 15).

Ebenfalls starke Schwärzung zeigen die Muskelfibrillen der Flugmuskulatur. Sie sind im Querschnitt als stark geschwärzte Punkte sichtbar. Im Längsschnitt sind deutlich die einzelnen Fasern zu er-

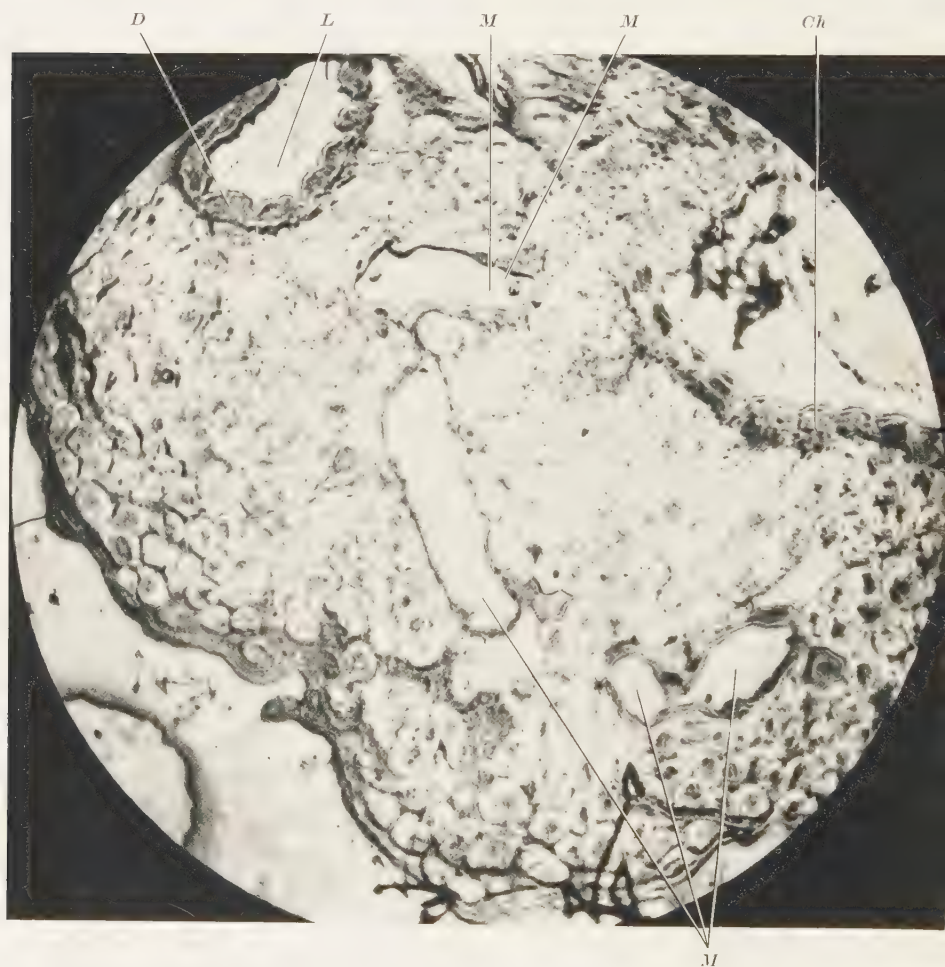


Abb. 13. Querschnitt durch eine Made (Vergr. $48+2 \times$ fotogr.). Die Kerne haben viel ^{32}P gespeichert, sie schwärzen die photographische Platte sehr stark, das Plasma dagegen weniger; außerdem zeigen sie chitinbildende Randzone *Ch*, das Darmepithel *D* und das Epithel der Malpighischen Gefäße *M* deutliche Schwärzungen, *L* Darmlumen (Abb. 13—19 sind Mikroautoradiographien).

kennen (Abb. 16). Ebenso war die Speicherung von ^{32}P im Gehirn der Sammelbiene zu erwarten, tatsächlich erwies sich der Schnitt als stark geschwärzt. Die stärkste Einlagerung von ^{32}P erfolgte im Bereich des Lobus opticus. Da der Futtersaft stark aktiv ist, war auch die Ein-

lagerung von ^{32}P in die Futtersaftdrüse zu erwarten. Im Schnitt zeigt sich die Schwärzung der einzelnen Zellelemente deutlich (Abb. 17).

Im Querschnitt durch den Hoden ist der Mittelbereich stark geschwärzt, das wird vor allem bei starker Vergrößerung deutlich (Abb. 18), während bei den Ovarien der Phosphor hauptsächlich in den Eizellen liegt (Abb. 19).

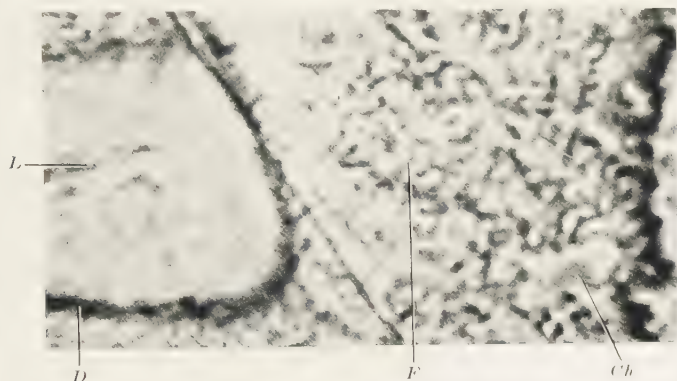


Abb. 14. Querschnitt durch eine Puppe (Vergr. $48 + 2 \times$ photogr.). Die chitinbildende Zone *Ch* und das Darmepithel *D* sind stark geschwärzt. Im Fettgewebe *F* (die Fettspeicherzellen werden im Laufe der Puppenruhe abgebaut) ist die Schwärzung diffus, *L* Darmlumen



Abb. 15. Querschnitt durch das Mitteldarmepithel und die Malpighischen Gefäße einer Imago (Vergr. $150 + 3 \times$ photogr.). Das Darmepithel *D* zeigt im Gegensatz zum Lumen eine deutliche Schwärzung, *M* Malpighische Gefäße

Der radioaktive Phosphor wird also in allen Organen der Honigbiene gespeichert. Es bestehen nur Unterschiede in der Menge des eingelagerten ^{32}P und somit auch in der Intensität der Schwärzung. Besonders interessant ist die Speicherung des ^{32}P in der Futtersaftdrüse und in den Maden bzw. Puppen. Dies ist ein weiterer Beweis dafür, daß die Bienen die eingetragene Ringerlösung zur Aufzucht der Brut verwenden und

benötigen. Außerdem ergibt sich, daß die Ringerlösung zur Deckung des Mineralstoffbedarfs auch der erwachsenen Bienen einschließlich der Königin und Drohnen dient.

Die abgebildeten Präparate wurden mit dem Phasenkontrastmikroskop ausgewertet, sie sind nicht gefärbt.

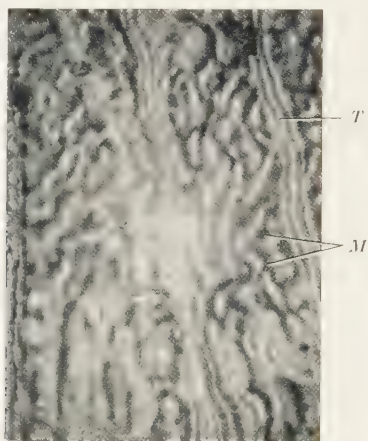


Abb. 16. Längsschnitt durch die Flugmuskulatur einer Sammelbiene (Vergr. $150+3\times$ photogr.), stripping abgezogen. Die Muskelfibrillen *M* sind deutlich geschwärzt, zwischen den einzelnen Muskelfasern sind die Tracheen zu erkennen



Abb. 17 *D*

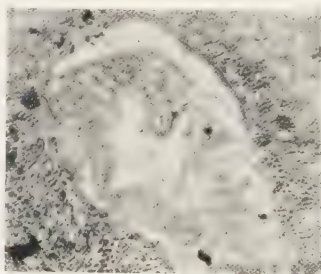


Abb. 18



Abb. 19

Abb. 17. Querschnitt durch die Futtersaftdrüse einer Amme (Vergr. $48+2\times$ photogr.). Die Drüsenzellen *D* zeigen eine deutliche *T* Schwärzung

Abb. 18. Querschnitt durch den Hoden (Vergr. $48+2\times$ photogr.). Der Mittelbereich ist ziemlich stark geschwärzt

Abb. 19. Querschnitt durch das Ovar einer begatteten Königin (Vergr. $48+2\times$ photogr.), stripping abgezogen. Das Bild zeigt einen Eischlauch mit Eikammern; die Kerne der Eizellen sind geschwärzt. *G* Germarium; *N* Nährzelle; *E* Eizelle

Zusammenfassung

1. Die im Winter durchgeführten Kästchenversuche mit erwachsenen Bienen ergaben keine Bevorzugung der Ringerlösung gegenüber reinem Wasser; es traten bei völlig mineralsalzfreier Ernährung keine Mangelerscheinungen auf.

2. Freilandbeobachtungen an einem im Flugkäfig gehaltenen Bienen-volk zeigen:

a) eindeutige Bevorzugung der Ringerlösung gegenüber Terrakoron, Kondrauer Madonnenbrunnen und Aqua bidest.; völlig abgelehnt wird eine stark verdünnte Ringerlösung.

b) Ringerlösung wird zur Brutpflege an Ammen abgegeben oder direkt in Zellen mit offener Brut gespuckt. Aqua bidest. wird zur Temperaturregelung verwendet. Der Bedarf an Ringerlösung ist abhängig von der Menge offener Brut im Stock, der Wasserbedarf dagegen hängt von der Temperatur ab.

c) Jauche wurde von den Bienen eindeutig abgelehnt.

d) Teichwasser nimmt eine Mittelstellung zwischen Ringerlösung und Aqua bidest. ein, es wurde sowohl zur Brutpflege als auch zur Temperaturregelung benutzt. Ein starker Anreiz zur Aufnahme durch den Geruch konnte nicht festgestellt werden.

e) Bei Wegnahme aller offenen Brut wird keine Ringerlösung mehr ertragen, der Wasserbedarf dagegen bleibt unverändert.

f) Bei Fütterung von einzelnen Salzen wurde NaCl , KCl , KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 bevorzugt angenommen, wenn es in der gleichzeitig angebotenen Ringerlösung fehlte. Ob die Salze der normalen Ringerlösung vorgezogen werden, konnte nicht festgestellt werden.

3. Durch Beobachtungen an einem Volk, das in einem abgeschlossenen Raum gehalten wurde, konnten die Sommerversuche nochmals bestätigt werden. Ringerlösung wird zur Brutpflege verwendet.

4. Bei Fütterungsversuchen an erwachsenen Bienen mit markierter Ringerlösung zeigten die angefertigten Kontaktautoradiographien starke Schwärzungen des Darms, Arbeiterinnengehirns, Flugmuskulatur und der Futtersaftdrüse bei Ammen. Ebenso waren starke Schwärzungen des Königinnenovars zu beobachten.

5. Bei der Fütterung eines kleinen Volks mit ^{32}P zeigten nur die Brutzellen deutlich abgegrenzte Schwärzungen, die übrige Wabe war inaktiv.

6. Bei einem Versuch mit einem normal entwickelten Bienen-volk ergab sich wiederum eine starke, scharf abgegrenzte Schwärzung der Brutzellen, ferner eine außerordentlich hohe Aktivität des Futtersaftes. Die ebenfalls ausgemessenen Maden zeigten vom Ei zur Puppe ansteigende Aktivität, nach der Verpuppung nehmen die Meßwerte ab.

7. Die Mikroautoradiographien einzelner Organe zeigen deutliche Anreicherung von ^{32}P .

a) im Darmepithel, den Malpighischen Gefäßen und der chitinbildenden Haut der Maden,

b) im Darm und Fettspeichergewebe von Puppen,

c) in den sezernierenden Zellen des Mitteldarms der Imago,

d) in den Muskelfibrillen der Flugmuskulatur,

- e) in der Futtersaftdrüse bei Brutammen,
- f) im Gehirn von Sammelbienen,
- g) in den Eizellen des Ovars und im Mittelbereich des Hodens.

Literatur

- ARONSOHN, M. F.: Sur la composition minerale de l'abeille. C.R. Acad. Sci. (Paris) **152**, 1183—1184 (1911). — BEUTLER, R.: Über den Blutzucker der Bienen. Z. vergl. Physiol. **24**, 71—116 (1937). — BOYD, G. A.: Stripping film technics for histological autoradiographs. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **60**, 225—226 (1940). — BUTLER, G.: The choice of drinking water with the honey-bee. J. exp. Biol. **17**, 253—261 (1947). — CHAUVIN, R.: Physiologie de l'insecte. Paris 1949. — EVANS, T. C.: Radiographs in which the Tissue is mounted directly on the photographic plate. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **64**, 313 (1947). — FRISCH, K. v.: Über die Sprache der Bienen. Zool. Jb., Phys. **40**, 2—154 (1923). — Über den Geschmacksinn der Biene. Z. vergl. Physiol. **21**, 2—154 (1934). — HABER, V.: The blood of insects. Bull. Brooklyn ent. soc. **21**, 61—100 (1926). — HERTZ, M.: Eine Bienendressur auf Wasser. Z. vergl. Physiol. **24**, 97 (1937). — HEVESY, G. v.: Radioaktive Indicators. London 1948. — KAMAN, D.: Radioactive tracers in biology. New York 1951. — LINDAUER, M.: Temperaturregulierung und Wasserhaushalt im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. **36**, 391 (1954). — MARQUARDT, P.: Pharmakologische und chemische Untersuchungen über Wirkstoffe im Pollen. Arzneimittel-Forsch. **2**, 167 (1952). — MAURIZIO, A.: Kochsalzvergiftung bei Bienen. Schweiz. Bientag. **69**, 358 (1946). — NIXON, H., u. C. RIBRANDS: Food transmission within the honeybee. Proc. roy. Soc. B **140**, 43 (1952). — PASSALAGUA, F.: Elementi di tecnica autoradiografica in riferimento alle applicazioni nel campo della cancerologica. Tumori **2**, 1—14 (1954). — PHILLIPP, K.: Deutsche Isotopenforschung in der Med. Umschau **11**, 539—541 (1952). — Die Verwendung künstlich radioaktiver Isotope in der Medizin. Physik. Bl. **11**, 26 (1955). — Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung. Die Autoradiographie in der experimentellen Medizin. Sonderbd. z. Strahlentherapie **33**, 21—29 (1954). — RENNER, M.: Über die Haltung von Bienen in geschlossenen, künstlich beleuchteten Räumen. Naturwiss. **19**, 539 (1955). — SNODGRASS, R., and E.: Anatomy and physiology of the Honeybee. New York 1956. — ZANDER, E.: Der Bau der Biene. Stuttgart 1946.

Dr. ANNEMARIE PISCITELLI,
Fürstenfeldbruck bei München, Hauptstraße 5

Lebenslauf

Als Tochter des Justizbeamten LUIGI PISCITELLI und seiner Ehefrau MARIA, geb. UHL, wurde ich, ANNEMARIE PISCITELLI am 23. April 1932 in Borgo/Valsugana, Italien geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Deutschland, trat 1938 in die Volksschule Fürstenfeldbruck und 1943 in die Luise-Oberrealschule München ein. Im Juli 1950 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Anschließend studierte ich an der Universität München 10 Semester Naturwissenschaften und arbeitete am Zoologischen Institut unter der Leitung von Frau Prof. Dr. R. BEUTLER und am radiologischen Institut der Universität Freiburg unter der Leitung von Prof. Dr. H. LANGENDORFF an meiner Dissertation.

1952 hatte ich die deutsche Staatsangehörigkeit erworben.

